

PH-ABHÄNGIGKEIT DES WACHSTUMSVERHALTENS VON

PROPIONIBACTERIUM ACNES

Andrea Bau



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Dermatologischen Klinik und Poliklinik
der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Otto Braun-Falco

PH-ABHÄNGIGKEIT DES WACHSTUMSVERHALTENS VON
PROPIONIBACTERIUM ACNES

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Andrea Bau
aus
Offenburg
München 1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:

Priv. Doz. Dr. med. habil. H.C. Korting

Mitberichterstatter:

Prof. Dr. med. Dr. h. c. O. Braun-Falco

Dekan:

Prof. Dr. med. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 12. 02. 1987

Inhaltsverzeichnis:

	Seite
1. Einleitung	1
2. Material und Methoden	4
2.1. Material	4
2.1.1. Propionibacterium-acnes-Stämme	4
2.1.2. Nährmedien	4
2.1.3. Gas-Pak-System	6
2.1.4. Pufferlösung	6
2.1.5. Titrierlösung	6
2.1.6. Geräte	7
2.1.6.1. Photometer	7
2.1.6.2. PH-Meßgerät und pH-Elektrode	7
2.2. Methoden	7
2.2.1. Anzüchtung und Typisierung	7
2.2.2. Herstellung der Testansätze	8
2.2.3. Versuchsablauf	11
2.2.4. Erstellung der Eichkurve	12
3. Ergebnisse	13
3.1. Wachstumskurven der einzelnen Stämme	13
3.2. Zusammenfassung der Einzelergebnisse durch Darstellung der mittleren Wachstums- kurven der fünf verschiedenen pH-Werte	23
3.3. Überprüfung der Reproduzierbarkeit	27

	Seite
3.4. Spezifische Teilungs- bzw. Wachstumsrate	30
3.4.1. Definition und Berechnung	30
3.4.2. PH-Abhängigkeit der Teilungsraten	32
4. Diskussion	33
4.1. Vergleich der Ergebnisse mit Angaben aus der Literatur und Diskussion zur Methodik	33
4.2. Bedeutung der Ergebnisse im Hinblick auf den optimalen pH- Bereich von Hautwaschmitteln	35
Literaturverzeichnis	38
Danksagung	45
Lebenslauf	46

1. Einleitung

1928 haben Schade und Marchionini(45) erstmals mit Hilfe von Wasserstoff- und Chinhydronelektroden eingehende Untersuchungen des pH-Werts der normalen menschlichen Haut vorgenommen und ermittelten dabei Werte zwischen 1,87 und 5,17 für Hautbezirke ohne apokrine Schweißdrüsen und Werte zwischen 6,0 und 7,0 in der Axilla.

Im Rahmen der Interpretation dieser Daten schufen bereits diese Autoren den in der Folgezeit viel diskutierten Begriff "Säuremantel der Haut". Seine Bedeutung sahen sie ganz insbesondere in der Beeinflussung der bakteriellen Hautflora.

10 Jahre später sicherten Marchionini und Schmidt(29), sowie Marchionini, Schmidt und Kiefer(30) diese Hypothese mit experimentellen Ergebnissen ab; sie fanden insbesondere eine stark unterschiedliche bakterielle Keimbesiedlung im Bereich der stärker sauren Haut des Unterarms im Vergleich mit der stärker alkalischen Haut der Achselhöhle, sowie eine unterschiedliche Verweildauer künstlich auf die Haut aufgebrachter Bakterien (von der Spezies *Serratia marescens*) in diesem Bereich. Weitergehende Untersuchungen in dieser Richtung wurden in den Fünfziger Jahren durchgeführt.

So untersuchte Arbenz 1952 (1) den Haut-pH-Wert mit Hilfe einer Glaselektrode und ermittelte um ungefähr zwei Einheiten höhere Werte als Schade und Marchionini. Er fand für männliche Personen einen Durchschnittswert von 5,5 und bei weiblichen Probanden einen Durchschnittswert von 5,67.

Ähnliche Werte wurden in neuerer Zeit von anderen Autoren wie z.B. von Holland und Cunliffe (16) und von

Noble (37) gefunden. Andere Arbeiten beschäftigen sich mit der Wirkung eines sauren pH-Werts auf das Bakterienwachstum. So zeigten die Untersuchungen von Pillsbury und Rebell (39), daß ein pH-Wert von 3,8 deutlich bakteriostatisch, wenn auch nicht bakterizid wirkt. Röckl, Spier und Pascher (44) bzw. Marchionini, Pascher und Röckl (28) untersuchten den Einfluß von Hornschicht-Eluaten von unterschiedlichem pH-Wert (insbesondere pH 5 und pH 7) und fanden dabei eine drastische Keimreduzierung von *Staphylococcus aureus* wie *Staphylococcus albus* bei ersterem pH-Wert, während die eingesetzte (niedrige) Keimdichte bei letzterem weitgehend unbeeinflusst blieb.

Für *Propionibacterium acnes* lagen lange Zeit keine derartigen Untersuchungen vor, obwohl schon Ende des letzten Jahrhunderts von Unna (51) und später von Gilchrist (12, 13) dieses Bacterium in Comedonen histologisch nachgewiesen werden konnte, und auch schon damals ein Zusammenhang zwischen Akne vulgaris und dem "Bacillus acnes" erkannt wurde. Außerdem stellte Evans 1950 (8) fest, daß auch in der normalen menschlichen Hautflora Anaerobier und unter diesen wiederum *Propionibacterium acnes* die weitaus bedeutendste Komponente darstellen. 1978 befaßten sich dann schließlich Holland, Cunliffe und Roberts (18) eingehender mit der Frage nach dem pH-Optimum von *Propionibacterium acnes* und fanden das beste Wachstum bei pH 6,0 und ein deutlich verringertes bei pH 5,5 oder gar pH 5,0. In dieser Publikation wurde jedoch nur ein einziger Stamm untersucht und keine weiteren Angaben zu den Versuchsbedingungen im Einzelnen gemacht. Da jedoch das pH-Optimum von *P. acnes* eine wichtige Rolle in der Diskussion um den therapeutischen Nutzen der

Verwendung von Syndets bei Acne vulgaris spielt, und sich in letzter Zeit die im übrigen schon lange vorhandenen, das Säuremantel-Konzept kritisierenden Stimmen (vgl. Cornbleet (3)) gegenüber der postulierten Azidität der Hautoberfläche an sich (50) häufen, sei im folgenden noch einmal der Frage der pH-Abhängigkeit des Wachstums von Propionibacterium acnes nachgegangen.

2. Material und Methoden

2.1. Material

2.1.1. Propionibacterium-acnes-Stämme

Für die Versuche wurden insgesamt sieben verschiedene Stämme verwendet, die aus Reinkulturen von Hautabstrichen von sieben verschiedenen Patienten der Dermatologischen Universitätsklinik München stammten. Sie waren alle im Jahre 1983 isoliert und tiefgefroren worden. Sie sind unter folgenden Labornummern wiederzufinden: K27/2-1983, K2-1983, K57-1983, K7/2-1983, 22-1983, 62-1983, 46-1983.

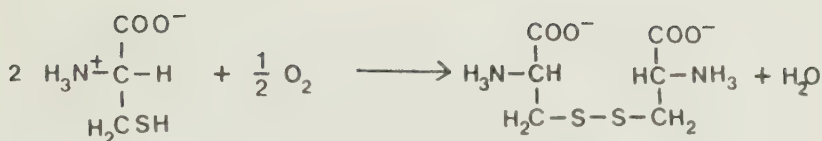
2.1.2. Nährmedium

Nach den Angaben aus der Literatur sind für P.acnes folgende Nährmedien geeignet:

Hirn-Herz-Infusionsbouillon (41,43,52,),
Brewers Thioglykolatmedium (38,46),
verstärktes Clostridienmedium (11,14,18),
tryptische Sojabouillon (TSB) (4,6,7).

Von diesen erwiesen sich die speziell für Anaerobier entwickelten Medien nach vielen Vorversuchen für den hier angewandten Versuchsaufbau aus folgenden Gründen als ungeeignet:

Jedem Anaerobiermedium ist ein Reduktionsmittel zugesetzt, das selbst oxidiert werden kann und somit in der Lage ist, freien Sauerstoff zu binden. Als Beispiel sei hier das Cystein erwähnt, das dem verstärkten Clostridien Medium zugefügt ist und durch Sauerstoff zu Cystin oxidiert wird.



Cystein

Cystin

Da sich in den Vorversuchen mit Anaerobiermedien regelmäßig ein relativ günstigeres Wachstum im basischen Bereich zeigte, kann man vermuten, daß das Gleichgewicht der Redoxgleichung in soweit beeinflußt wird, daß bei unterschiedlichen pH Werten auch leichtgradig unterschiedliche Sauerstoffspannungen vorliegen, was wiederum das Wachstum der Bakterien beeinflussen dürfte.

Somit ist es bei diesen Medien nicht möglich, eine exakte Aussage über die pH-Wert-Abhängigkeit des Wachstums zu machen, da als zusätzlicher Faktor die unterschiedliche Sauerstoffkonzentration hinzukommt. Nur bei völlig sauerstofffreier Umgebung wie bei den Versuchen von Holland und Cunliffe (18) wären solche Messungen zulässig.

Bei den vorliegenden Versuchen war aber aus labor-technischen Gründen (durch Öffnen der Anaerobiertöpfe für die Messungen) ein kurzzeitiger Sauerstoffkontakt nicht zu umgehen. Deshalb wurde tryptische Sojabouillon (BBL, Heidelberg, D) verwendet, die keinerlei Zusätze von Reduktionsmitteln enthält und dadurch bei allen pH-Werten dieselben Versuchsbedingungen bezüglich der Sauerstoffspannung garantiert.

2.1.3. Gas-Pak-System

Zur Herstellung von nahezu anaeroben Verhältnissen wurden Gas-Pak-Töpfe (Gas Pak 150 Anaerobiertöpfe) der Firma BBL, Heidelberg, D mit zugehörigem Entwicklerkit verwendet. Die CO_2 -Gasentwicklung läuft nach folgender Formel ab: Natriumbicarbonat (3 NaHCO_3) + Zitronensäure (H_3Ci) $\longrightarrow$ Na_3Ci + $3 \text{ H}_2\text{O}$ + 3 CO_2 . Durch Zusatz von Natriumborhydrid (NaBH_4) entsteht Wasserstoff (H_2). Dieser wiederum reagiert mit Hilfe eines Palladium-Katalysators mit Sauerstoff zu Wasser:



2.1.4. Pufferlösung

Da Propionibakterien während ihres Wachstums Säuren, insbesondere Fettsäuren bilden, war es zur Konstant-erhaltung der einzelnen pH-Werte notwendig, den Nährlösungen Puffersubstanzen zuzugeben. Es wurde das schon 1921 von McIlvaine (36) beschriebene Zitronensäure-Phosphatpuffersystem verwendet, das aufgrund seiner fünf verschiedenen pK-Werte (1,9, 3,1, 4,8, 5,4, 6,7) den Vorteil besitzt, in weiten Bereichen von pH 2,2-8,0 wirksam zu sein. Somit konnte für alle pH-Werte dieselbe Puffersubstanz verwendet werden.

2.1.5. Titrierlösung

Um die gewünschten Ausgangs-pH-Werte von 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5 zu erreichen, wurde die Nährlösung, deren Ausgangswert $7,3 \pm 0,2$ betrug, mit 0,5 N Salzsäure bzw. 0,5 N Natronlauge titriert.

2.1.6. Geräte

2.1.6.1. Photometer

Die Keimdichten der Meßlösungen wurden photometrisch mit Hilfe des Spectronic-20-Photometers, Fa. Bausch & Lomb, Unterhaching, D bei einer Wellenlänge von 540nm ermittelt.

2.1.6.2. PH-Meßgerät und pH-Elektrode

Die H^+ -Ionenkonzentration wurde mit der pH-Elektrode, Typ E56, WTW, Weilheim, D und dem Meßgerät pH-Digi 520, WTW, Weilheim, D gemessen.

2.2. Methoden

2.2.1 Anzüchtung und Typisierung

Die Erstanzüchtung erfolgte durch Ausplattierung der tiefgefrorenen Bakteriensuspensionen auf mit gegossenem Nährmedium gefüllten Petrischalen. Das Nährmedium bestand aus tryptischem Sojaagar und wurde nach folgendem Rezept hergestellt: Ein Liter Aqua dest. wurde mit 30g Pulver der tryptischen Soyabouillon, 10g Hefeextrakt (Yeast Extract, Difco, Michigan, USA), 20g Agar-Agar (Bacto Agar, Difco, Michigan, USA) und 5ml Tween 80 (Merck-Schuchardt, Hohenbrunn, D) angerührt.

Die beimpften Platten wurden für fünf Tage anaerob bei 37°C inkubiert. Makroskopisch typische Kolonien - weißgelblich bis schwach rosa, opaque, punktförmig bis kugelförmig - wurden abgeimpft und wieder für fünf Tage anaerob bei 37°C inkubiert.

Zur allgemeinen Differenzierung (26,2) wurden alle Rein-kulturen auf Gramfärbeverhalten, typische Koloniemorphologie und die Stäbchen- bis Keulenform im mikro-

skopischen Präparat getestet.

Zur Abgrenzung gegenüber aeroben Bakterien wurden alle Kulturen für 48 Stunden auf Schafsblutagar in Raumluftatmosphäre bebrütet.

Die Speziesreklassifizierung und Biotypisierung erfolgte mit Hilfe eines kommerziellen Testsystems (API 20 A, API international, Genf, Schweiz) aufgrund des typischen Verteilungsmusters der biochemischen Leistungen. Die hier verwendeten sieben Stämme unterschieden sich nur in ihrer Fähigkeit Säure aus Sorbit zu bilden. Dies war bei Stamm K2/1983 und Stamm 22/1983 der Fall, die somit dem Biotyp E bzw. F zuzuordnen sind. Die übrigen Stämme gehören dem weitaus häufigeren Biotyp A an (22, 26, 40).

2.2.2 Herstellung der Testansätze

Das vorgefertigte Pulver der tryptischen Sojabouillon (TSB) wurde in 2/3 der vorgeschriebenen Menge destillierten Wassers gelöst und mit Hilfe der Titrierlösungen auf die pH-Werte 5,5, 6,0, 6,5, 7,1, 7,7 eingestellt. Wegen der Verschiebung der pH-Werte im basischen Bereich zum Säuren durch das Autoklavieren erhielt man dann letztlich die gewünschten Werte 5,5, 6,0, 6,5, 7,0, 7,5. Das restliche Drittel der Menge an Aqua dest. wurde durch die entsprechenden Pufferlösungen ersetzt.

Da es durch das langsame und störanfällige Wachstum von *P.acnes* schwierig ist, eine Keimüberwucherung mit unkomplizierten Luftkeimen zu verhindern, war es notwendig, die Nährlösungen nach dem Autoklavieren möglichst wenig durch Umschütten zu manipulieren. Deshalb wurden die Pufferlösungen schon vor dem Autoklavieren

den Nährlösungen zugesetzt. Hiervon wurden vorberechnete Mengen in Reagenzgläser (Elka Nr.2770, Assistent, Sondheim/Röhn, D), die sich auch an Stelle von Küvetten für die direkte Photometrie eigneten, pipettiert. Pro pH-Wert wurden neun Röhrchen mit jeweils 4,5 ml, eines mit 5 ml Nährmedium und außerdem ein kleines Reagenzröhrchen -für alle pH-Werte gemeinsam- mit 2 ml ungepuffelter Sojabouillon zur Herstellung der Ausgangssuspension gefüllt.

Nach dem Autoklavieren wurde in letzterem der jeweilige P.acnes-Stamm hochkonzentriert eingegeben. Diese stark getrübbte Suspension wurde dann unter photometrischer Kontrolle in 50-100 μ l-Portionen gleichmäßig in die 5 ml enthaltenden Röhrchen der verschiedenen pH-Werte pipettiert bis eine optische Dichte von 0,5 vorlag, was einer Keimdichte von $5 \times 10^5 / \mu$ l entsprach. Somit erhielt man pro pH-Wert ein Reagenzglas mit 5,1-5,2 ml Bakteriensuspension. Diese wurde in 500 μ l Portionen auf die neun 4,5 ml TSB enthaltenden Röhrchen des jeweiligen pH-Werts verteilt, was einer Verdünnung von 1:10 entsprach. Mit diesen insgesamt 45 (5x9) Reagenzgläsern wurden dann schließlich die Hauptversuche durchgeführt. Die Ausgangsextinktionswerte lagen schließlich bei sechs der sieben Stämme zwischen 0,04 und 0,06; nur bei Stamm 62/1983 wurde eine dreifach höhere Ausgangskonzentration gewählt (vide infra).

Dieses relativ komplizierte Verdünnungsverfahren war notwendig, um in allen Reagenzgläsern exakt die gleichen Ausgangskonzentrationen zu erhalten.

Auf der folgenden Seite ist der eben erläuterte Versuchsaufbau zum besseren Verständnis noch einmal graphisch dargestellt.

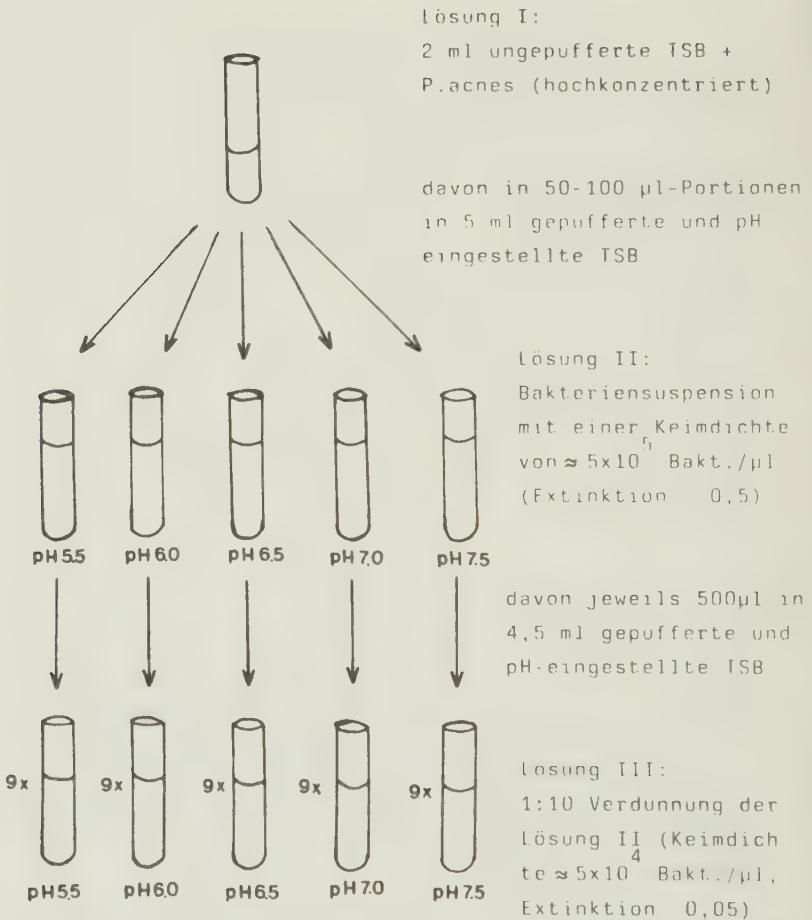


Abb. 1: Darstellung der Verdünnungsmethodik

2.2.3. Versuchsablauf

Das Wachstumsverhalten bzw. die Erhöhung der Keimdichte wurde indirekt durch Bestimmung der optischen Dichte der Bakteriensuspensionen untersucht. Außerdem wurden laufend pH-Wertkontrollen durchgeführt.

Wegen des langsamen Wachstums von *Propionibacterium acnes* war es notwendig, die Bakteriensuspension abends anzusetzen, um dann am nächsten Tag während der exponentiellen Wachstumsphase messen zu können. Um auch die Anfangsphase des Wachstums zu erfassen, wurden bei Stamm 46/1983 und 62/1983 die Suspensionen morgens angesetzt und dann fortlaufend gemessen. Bei diesen beiden Versuchen mußte man allerdings in Kauf nehmen, daß die Messungen der exponentiellen Phase durch die darauffolgende Nacht limitiert wurde.

Eine Untersuchung bestand aus den Messungen des Wachstumsverhaltens eines einzelnen Stammes bei fünf verschiedenen pH-Werten. Die übrigen Stämme wurden an anderen Tagen getestet.

Für die Stämme K27/2-1983, K2-1983, K57-1983, K7/2-1983, 22-1983 wurden nach Übernachtinkubation im Schüttelbad (Fa. Köttermann, Hänigsen) bei 37 °C in anaeroben Milieu die H^+ -Ionenkonzentrationen und die optischen Dichten 12, 16, 19, 21, 23 und 25 Stunden nach Versuchsbeginn ermittelt; für die übrigen beiden Stämme wurden die Meßzeitpunkte folgendermaßen gewählt: für Stamm 46-1983 5, 9, 12, 14 und 17 Stunden und für Stamm 62-1983 3, 6, 9, 12 und 15 Stunden nach Versuchsbeginn. Es wurde immer zuerst photometriert, dann der pH-Wert gemessen und daraufhin der Inhalt des entsprechenden Röhrchens verworfen. Sofern -und dies war nur bei den pH-Werten 7,0 und 7,5 der Fall- der pH-Wert um mehr als 0,2 vom Aus-

gangswert abwich, wurde entsprechend (höchstens zweimal) nachtitriert.

2.2.4. Erstellung der Eichkurve

Wie schon erwähnt, wurde als Methode zur Erfassung der Veränderung der Keimdicke von *P. acnes* die Photometrie gewählt. Dies ist möglich, da nach dem Beer'schen Gesetz ein linearer Zusammenhang zwischen Extinktion und Konzentration besteht.

$$E = \epsilon \times d \times c$$

E = Extinktion

ϵ = Extinktionskoeffizient

d = Schichtdicke

c = Konzentration

ϵ und d sind Konstanten. Deshalb entspricht die Extinktion dem Produkt aus Konzentration und einem bestimmten Faktor. Dieser läßt sich durch Ausplattieren von Bakteriensuspensionen bekannter optischer Dichten ermitteln, indem man die Konzentrationen in einem Koordinatensystem gegen die Extinktionswerte aufträgt und die Steigung der so entstandenen Geraden abliest. In dieser Untersuchung betrug der Faktor 10^{-6} .

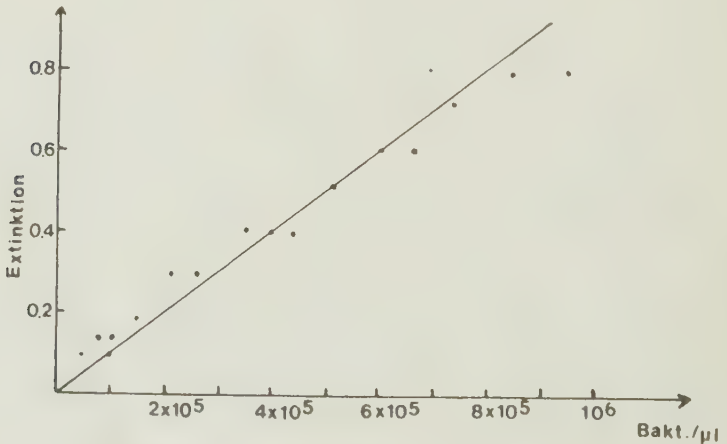


Abb. 2: Eichkurve

3. Ergebnisse

3.1 Wachstumskurven der einzelnen Stämme

Bei allen sieben *Propionibacterium-acnes*-Stämmen zeigte sich eine deutliche Abhängigkeit der Keimvermehrung vom pH-Wert der Suspension bei ansonsten identischen Versuchsbedingungen.

Die Abbildungen 3-11 stellen die Wachstumskurven jeweils eines Stammes bei fünf verschiedenen pH-Werten dar. Die Keimdichten wurden aus der Extinktion mit Hilfe der oben beschriebenen Eichkurve bestimmt. Zur Überprüfung der Reproduzierbarkeit wurde der Stamm K27/2-1983 dreimal untersucht.

Auf der y-Achse sind die Bakterienkonzentrationen logarithmisch aufgetragen, dadurch erhält man während der exponentiellen Wachstumsphase eine Gerade. Die Meßzeitpunkte lassen sich auf der x-Achse ablesen. Man kann bei allen sieben Stämmen deutlich erkennen, daß die Geraden bei pH-Wert 6,0 und 6,5 wesentlich steiler verlaufen als bei pH 7,0 oder gar 7,5 und 5,5.

Aus den Abbildungen 10 und 11 geht durch die schon erwähnte andere zeitliche Einteilung des Versuchsablaufs hervor, daß die Anfangsphase bei den in dieser Arbeit vorliegenden Versuchsbedingungen je nach pH-Wert ungefähr 5-6 Stunden beträgt.

Die dreifach höhere Ausgangskonzentration bei Stamm 62-1983 (Abb.11) wurde deshalb gewählt, um bei einer Untersuchungszeitspanne von nur 15 Stunden Extinktionswerte zu erhalten, die in einem besser meßbaren Bereich liegen, und außerdem um zu zeigen, daß das Wachstumsverhalten dadurch unbeeinflußt bleibt.

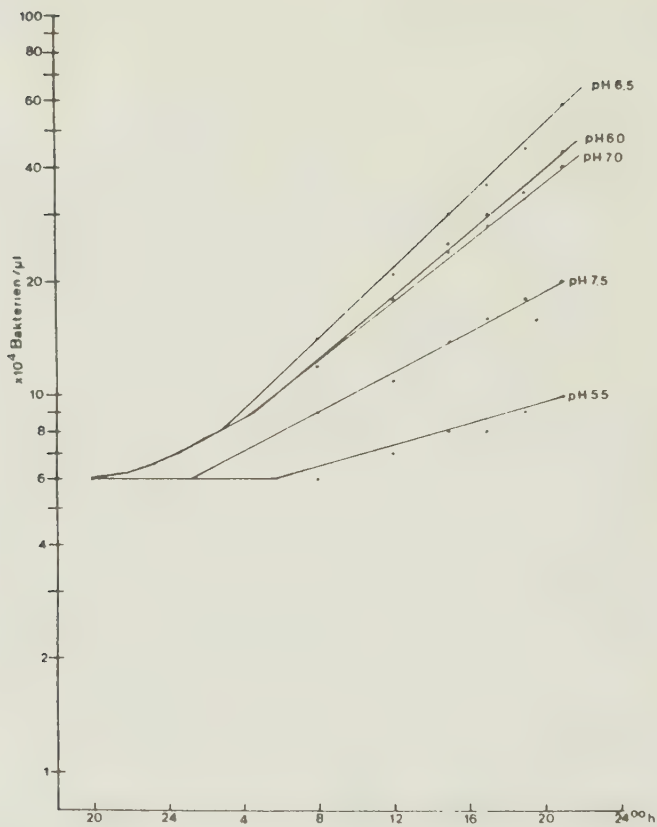


Abb. 3: Wachstumskurve von Stamm K27/2-1983 (Versuch 1)

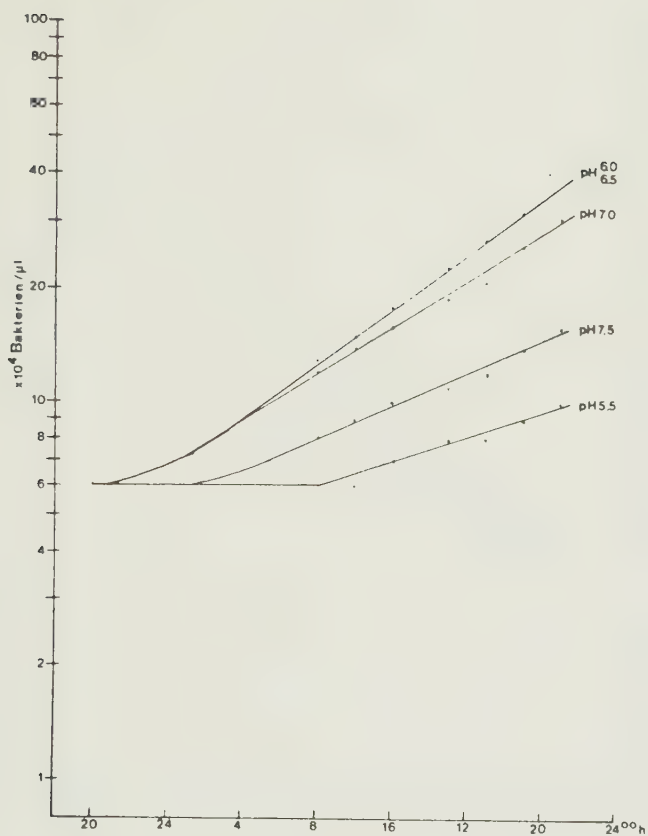


Abb. 4: Wachstumskurve von Stamm K27/2-1983 (Versuch 2)

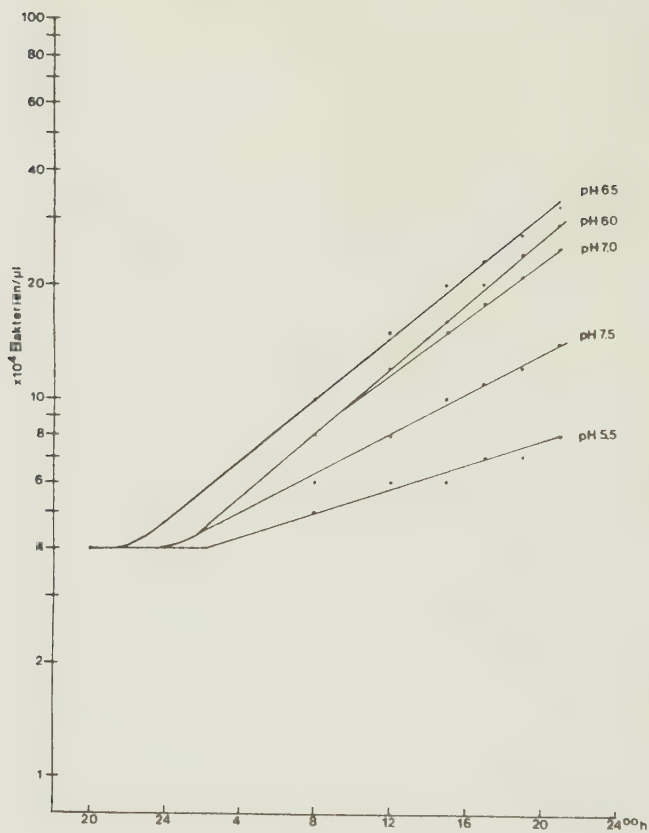


Abb. 5: Wachstumskurve von Stamm K27/21983 (Versuch 3)

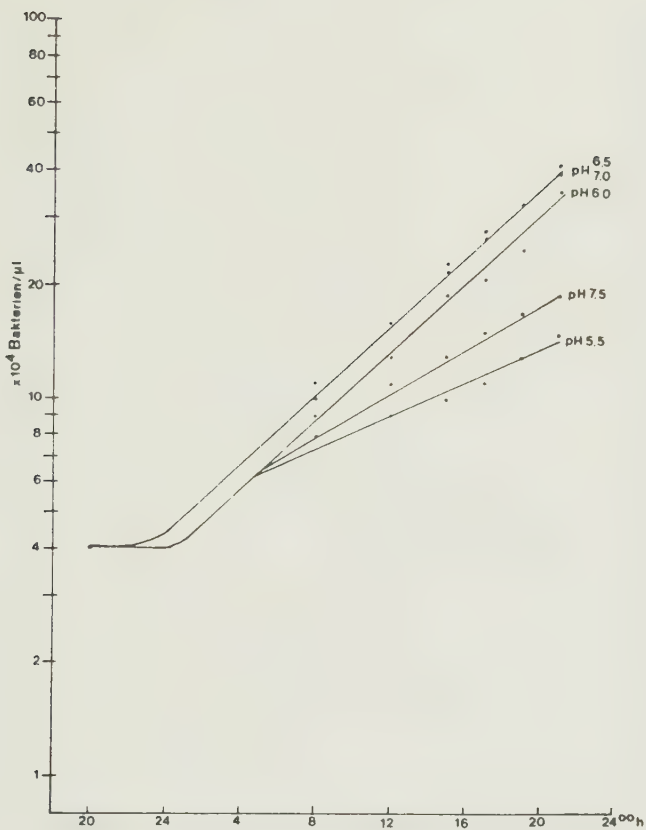


Abb. 6: Wachstumskurve von Stamm 22-1983

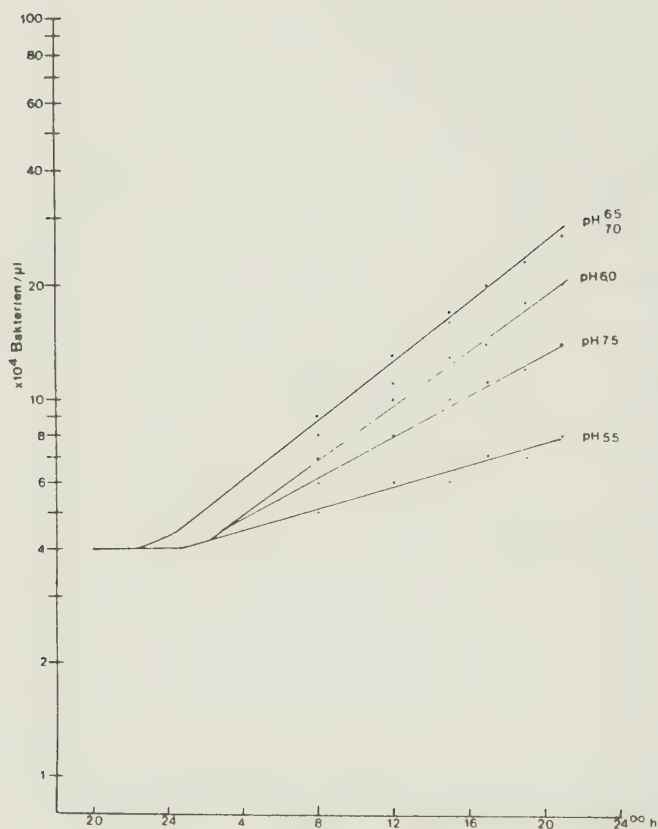


Abb. 7: Wachstumskurve von Stamm K57-1983

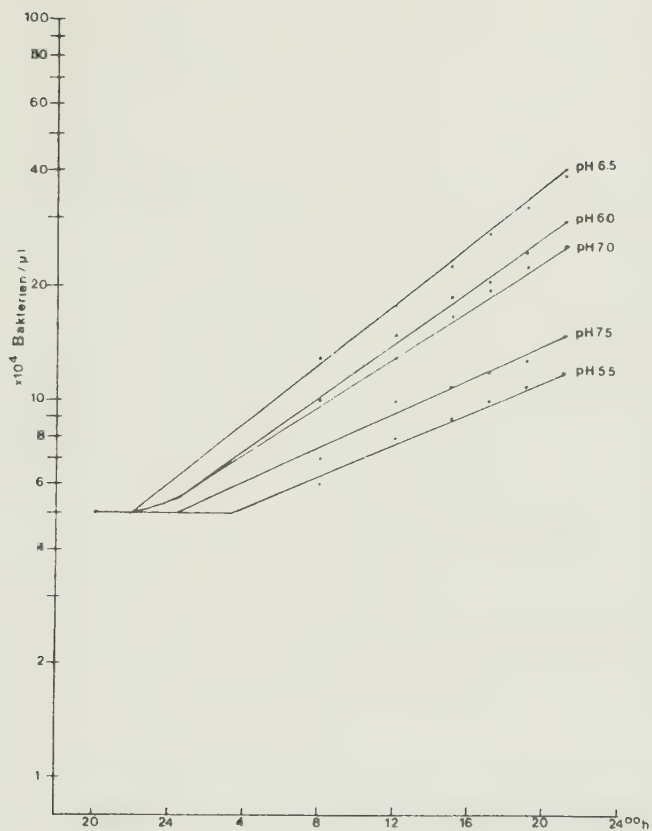


Abb. 8: Wachstumskurve von Stamm K2-1983

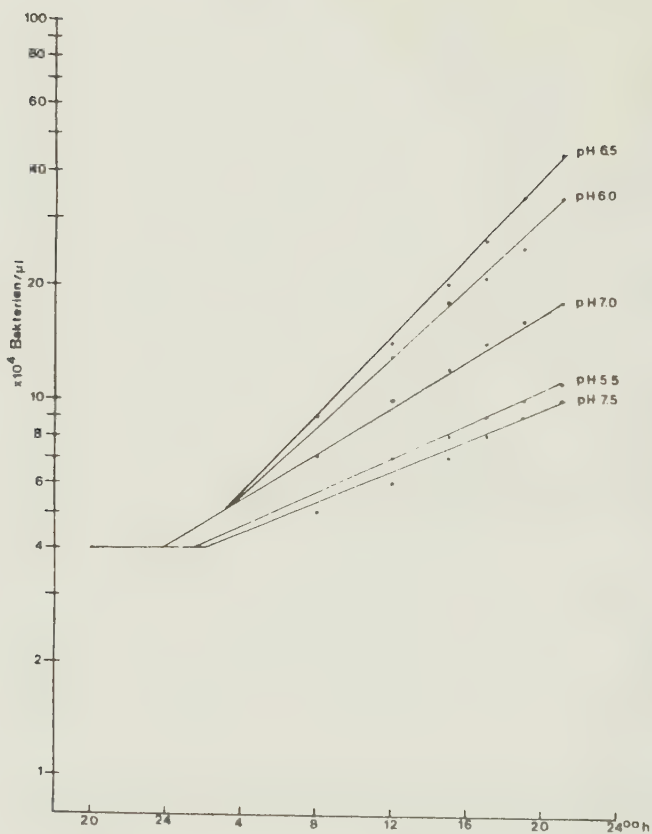


Abb. 9: Wachstumskurve von Stamm K7/2-1983

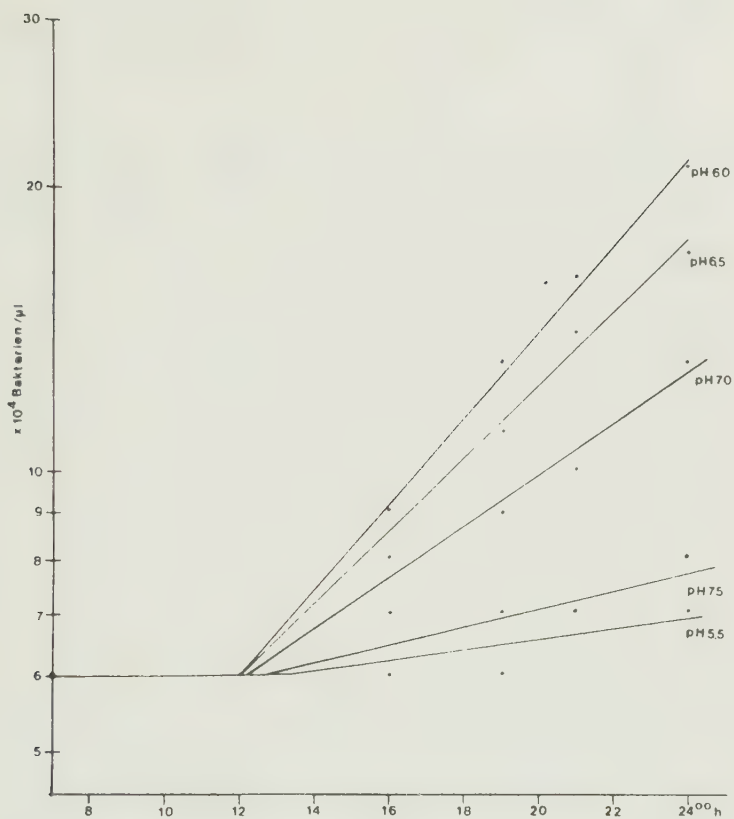


Abb. 10: Wachstumskurve von Stamm 46-1983

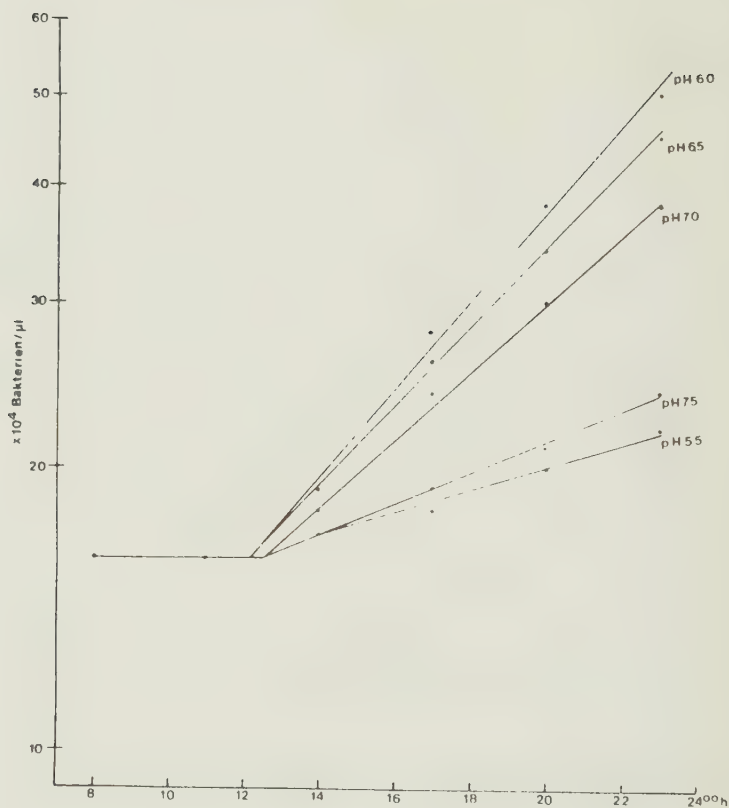


Abb. 11: Wachstumskurve von Stamm 62-1983

3.2 Zusammenfassung der Einzelergebnisse durch Darstellung der mittleren Wachstumskurven der fünf verschiedenen pH-Werte

Zur besseren Übersichtlichkeit werden die Meßergebnisse der Stämme K27/2-1983, K57-1983, K2-1983, K7/2-1983 und 22-1983 zusammengefaßt (Abb.12-16). Um den Fehler einer erhöhten Streubreite durch unterschiedliche Ausgangskonzentrationen zu vermeiden, wurde die Bakteriendichte zum Zeitpunkt X (N) durch die Bakteriendichte zum Zeitpunkt null (N_0) dividiert. Durch die Gleichung $N = N_0 \times y$ läßt sich ausdrücken, daß die Konzentration N ein Vielfaches der Ausgangskonzentration N_0 ist. Durch Umformung erhält man die Formel $y = N : N_0$. Also kann man auf der y-Achse direkt den Vervielfältigungsfaktor der Anfangskeimdichte ablesen. Ein y-Wert von 8 besagt somit, daß sich die Bakterienzahl verachtfacht hat.

Während der exponentiellen Wachstumsphase gilt (5): $y = 2^n$. Durch Logarithmieren kann die Anzahl der Verdopplungen berechnet werden: $\log y : \log 2 = n$ oder $\log_2 y = n$. Als Beispiel wird wieder der y-Wert 8 gewählt: $\log_2 8 = 3$. Also hat sich die Ausgangskonzentration bei einem y-Wert von 8 dreimal verdoppelt.

Die senkrechten Striche geben die Streubreiten der Ergebnisse der verschiedenen Stämme zu einem bestimmten Zeitpunkt an. Eine Streubreite von 5 bis 9 bedeutet, daß der am langsamsten wachsende Stamm sich zu diesem Zeitpunkt verfünffacht und der am schnellsten wachsende sich verneunfacht hatte.

Die durchgezogene Linie stellt die mittlere Wachstumsgerade für den jeweiligen pH-Wert der Bakterien-suspensionen dar.

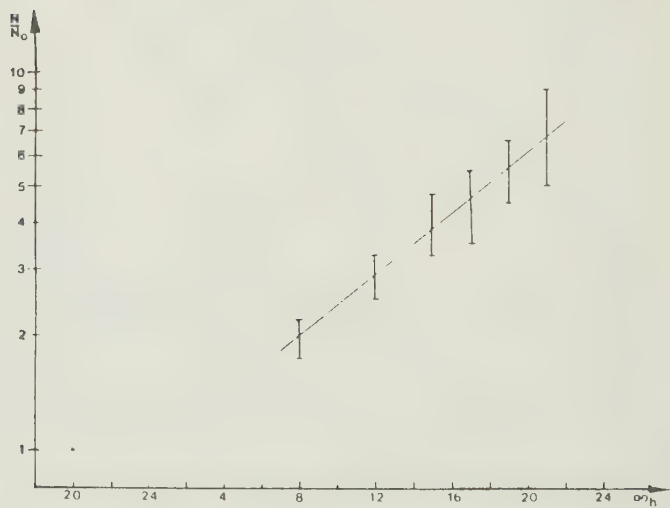
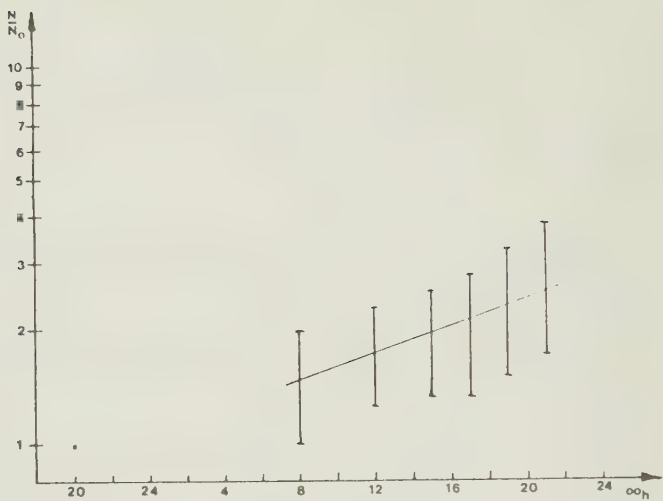


Abb.12 u.13: Mittlere Wachstumskurven für 5 verschiedene P.acnes-Stämme bei pH 5,5 (oben) und 6,0 (unten)

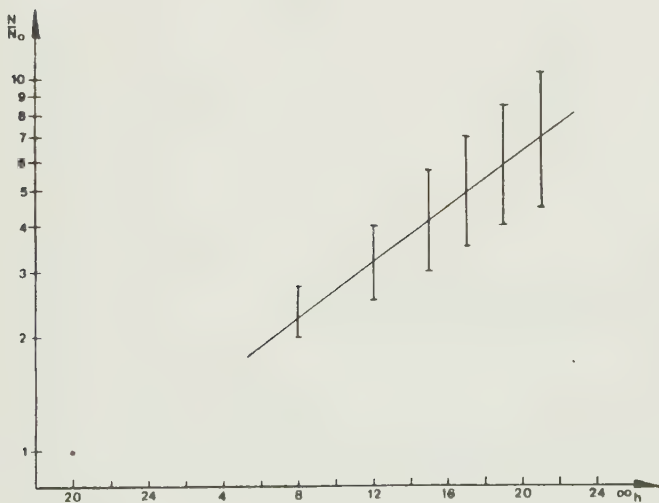
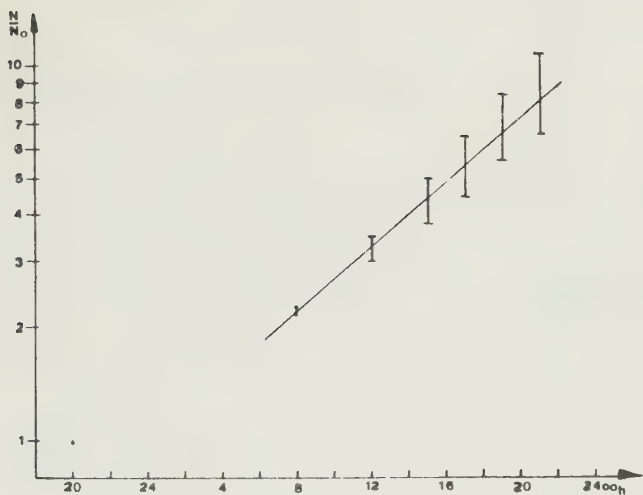


Abb.14 u.15: Mittlere Wachstumskurven für 5 verschiedene *P. acnes*-Stämme bei pH 6,5 (oben) und 7,0 (unten)

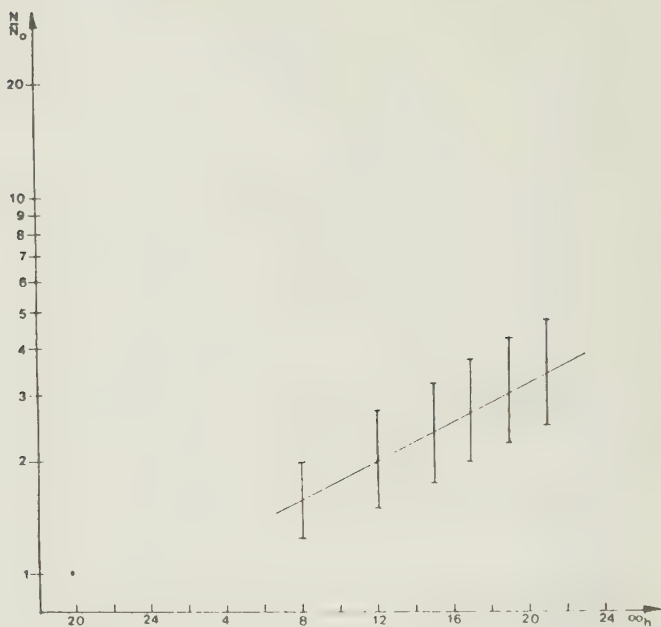


Abb. 16: Mittlere Wachstumskurve für 5 verschiedene *P. acnes*-Stämme bei pH 7,5.

3.3 Überprüfung der Reproduzierbarkeit

In den Abbildungen 17 bis 21 sind die Ergebnisse der drei Untersuchungen des Stamms K27/2-1983 auf dieselbe Weise wie oben zusammengefaßt. Im Vergleich zu den Abbildungen 12 bis 16 erkennt man eine geringere Streubreite. Dies spricht für eine befriedigende Reproduzierbarkeit der Untersuchungen.

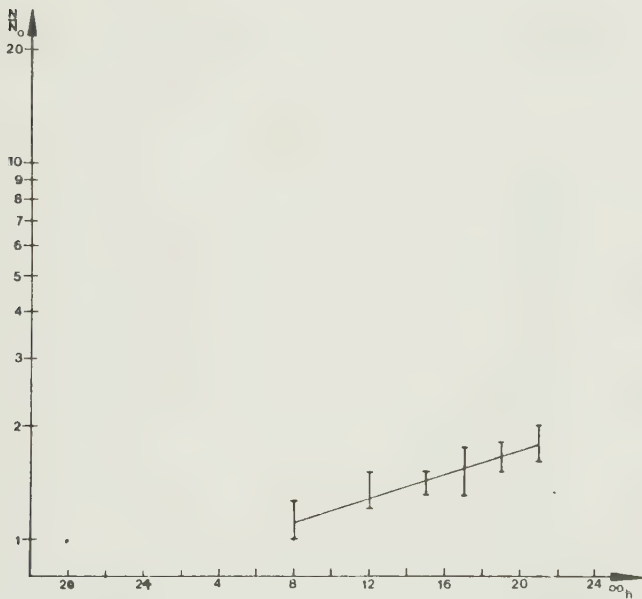


Abb. 17: Mittlere Wachstumskurve von Stamm K27/2-1983 aus 3 verschiedenen Messungen bei pH 5,5.

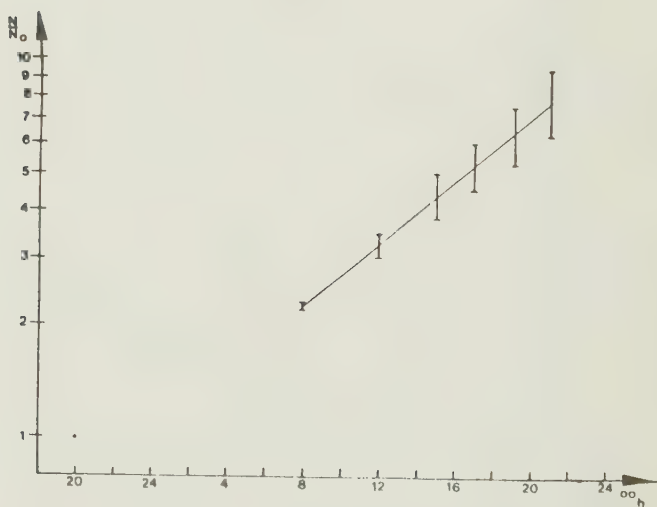
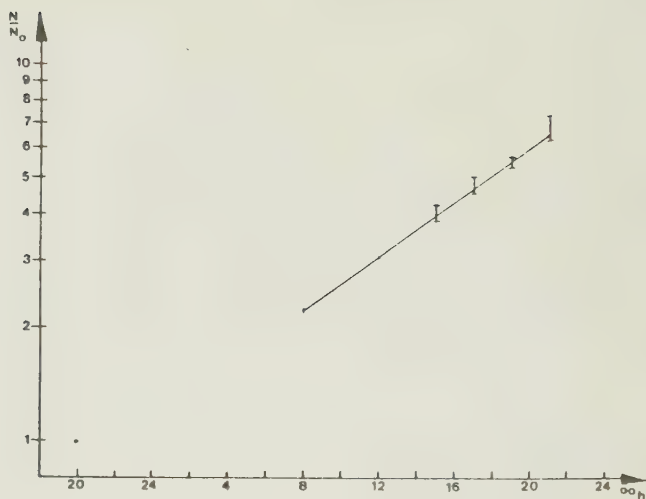


Abb.18 u.19: Mittlere Wachstumskurven von K27/2-1983 aus 3 verschiedenen Messungen bei pH 6,0 und 6,5

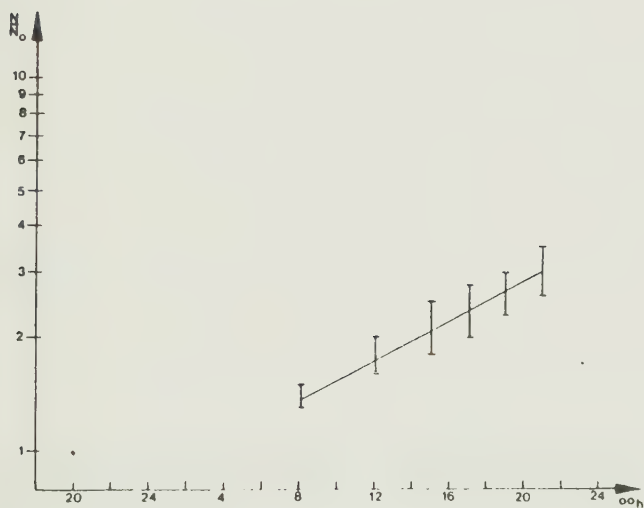
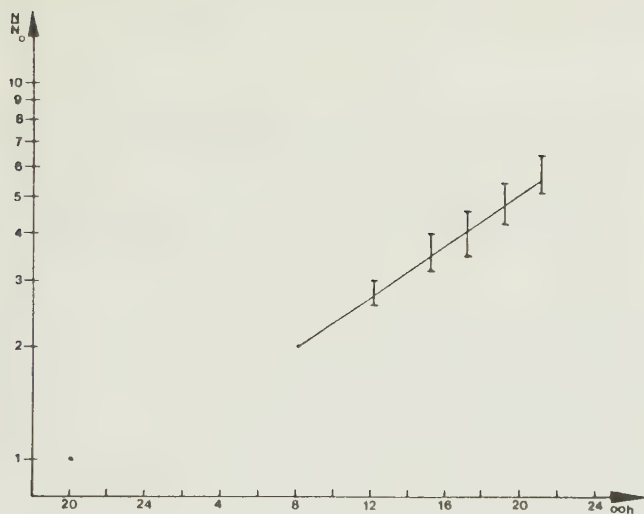


Abb.20 u.21: Mittlere Wachstumskurven von K27/2-1983 aus 3 verschiedenen Meßungen bei pH 7,0 und 7,5.

3.4. Spezifische Teilungs- bzw. Wachstumsrate

3.4.1. Definition und Berechnung

Der Begriff Teilungsrate (bzw. Wachstumsrate) bedeutet die Anzahl der Verdopplungen der Zellzahl (bzw. der Zellmasse) pro Zeiteinheit, im vorliegenden Fall pro Stunde. Das Adjektiv spezifisch oder relativ besagt, daß die Teilungsrate eine von den gegebenen Wachstumsverhältnissen abhängige Größe ist. Verschiedene Werte sind nur dann miteinander vergleichbar, wenn bei sonst absolut konstanten Bedingungen nur ein Faktor variiert wird, was bei dieser Arbeit die H^+ -Ionenkonzentration war.

Um einen konstanten Wert zu erhalten, ist ihre Berechnung nur während des exponentiellen Wachstums möglich, da nur in dieser Phase die Bakterien sich immer im selben Zeitraum verdoppeln.

Die Bakteriendichte beträgt nach n Verdopplungen:

$$N = N_0 \times 2^n$$

Durch Logarithmierung ergibt sich $\log N = \log N_0 + n \times \log 2$.

Dann ist $n = (\log N - \log N_0) : \log 2$ oder

$$n = \log_2 N - \log_2 N_0.$$

Die Teilungsrate μ ist gleich $n : t$. Also gilt:

$$\mu = (\log_2 N - \log_2 N_0) : t - t_0$$

Einfacher läßt sich die Teilungsrate graphisch erfassen, indem man die Zeitspanne, in der sich während der

Wachstumsphase die Bakteriendichte verdoppelt, abliest und davon den Reziprokwert bildet.

In Tabelle 1 sind die so ermittelten Teilungsraten aufgelistet und in Tabelle 2 deren Mittelwerte.

Stamm Nr. / pH	46- 1983	K/2- 1983	22- 1983	62- 1983	K2- 1983	K27/2- 1983	K57- 1983
5.5	0.02	0.07	0.07	0.04	0.05	0.05	0.07
6.0	0.15	0.15	0.15	0.154	0.12	0.14	0.12
6.5	0.13	0.18	0.15	0.14	0.13	0.14	0.13
7.0	0.09	0.1	0.15	0.12	0.13	0.12	0.11
7.5	0.03	0.07	0.1	0.06	0.09	0.08	0.08

Tabelle 1: Teilungsraten für sieben P.acnes-Stämme bei verschiedenen pH-Werten

pH	5.5	6.0	6.5	7.0	7.5
Teilungsrate	0.053	0.14	0.143	0.12	0.073

Tabelle 2: Mittelwerte der Teilungsraten

3.4.2. PH-Abhängigkeit der Teilungsraten

Um den für das Wachstum von *P. acnes* optimalen pH-Bereich direkt ablesen zu können, wurden als Zusammenfassung aller Ergebnisse die Mittelwerte der spezifischen Teilungsraten mit ihren Streubreiten in Abhängigkeit vom pH-Wert der Bakteriensuspension dargestellt.

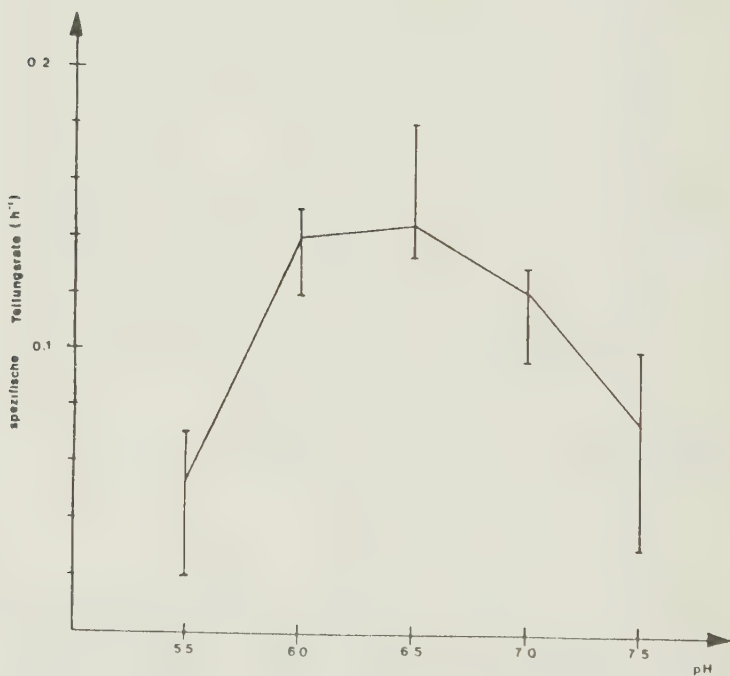


Abb. 22: Spezifische Teilungsrate von 7 verschiedenen *P. acnes*-Stämmen in Abhängigkeit vom pH-Wert mit Streubreiten

4. Diskussion

4.1 Vergleich der Ergebnisse mit Angaben aus der Literatur und Diskussion zur Methodik

Die vorliegenden Untersuchungen zum für das Wachstum von *Propionibacterium acnes* idealen pH-Wert -unter genau definierten Bedingungen- bei weitgehender Konstant-erhaltung des initial eingestellten pH-Wertes über ein Puffersystem haben ein Wachstumsoptimum im Bereich von pH 6,0 bis 6,5 erbracht. Dies deckt sich mit den Angaben in der Literatur, die aber oft nicht auf eigenen Versuchen von den Autoren beruhen. Sie sprechen von einem optimalen Bereich zwischen pH 5,2 und 6,0 (16), einem Wachstumsoptimum bei pH 6,0 (38) respektive einem Optimalbereich zwischen 6,0 und 6,5 (49). Auch die Arbeit von Holland, Cunliffe und Roberts (18), die als einzige experimentelle Daten und zwar im Chemostat-versuch enthält, erbrachte ähnliche Ergebnisse. Hier wurde ein idealer pH-Wert von 6,0 ermittelt. Allerdings zeigte sich hier ein deutlicher Abfall der Wachstumsrate bei pH 6,5. In der vorliegenden Untersuchung sind die Wachstumsraten für pH 6,0 und 6,5 annähernd gleich. Dieser Unterschied könnte darauf zurückgeführt werden, daß in der Arbeit von Holland et al. nur ein einziger Stamm untersucht wurde, dessen Biotyp zudem nicht angegeben wurde. Außerdem liegen bei dieser Arbeit im Vergleich zur vorliegenden Studie die spezifischen Teilungs- bzw. Wachstumsraten aus folgenden Gründen beträchtlich höher: Erstens wurde ein anderes Nährmedium benutzt, welches aus den oben genannten Gründen für die hier angewendete Methodik ungeeignet war. Zweitens wurden die Untersuchungen in einem Chemostaten durchge-

führt, in welchem durch automatische Kontrolle der Sauerstoffspannung und laufende Zugabe von Titrierlösung und Nährstoffen optimale Wachstumsbedingungen herrschen. Die Untersuchung wird dadurch insbesondere im Hinblick auf die Konstanzhaltung der pH-Werte einfacher durchführbar, und die Streubreiten werden geringer. Die Aussagekraft wird aber nicht wesentlich erhöht, da auch in der vorliegenden Arbeit streng darauf geachtet wurde, möglichst konstante Wachstumsbedingungen zu erreichen, und dadurch auch aus den vorliegenden Ergebnissen eine klare Tendenz bezüglich des pH-Optimums und des ungünstigen Wachstumsverhaltens im sauren Bereich zu erkennen ist.

In diesem Zusammenhang sollen die teils schon oben erwähnten Schwierigkeiten dieser Arbeit ohne Chemostaten und deren Bewältigung noch einmal aufgeführt werden:

1. Es mußte auf Anaerobiermedium verzichtet werden, um den Fehler auszuschließen, bei verschiedenen Sauerstoffspannungen und unterschiedlichen Wellenlängen zu messen. Letzteres wäre nötig gewesen, weil der im Medium befindliche Indikator für die Sauerstoffspannung bei niedrigen pH-Werten die Farbe ändert.

2. Die Anaerobier-Töpfe mußten während der photometrischen Messungen geöffnet und die einzelnen Reagenzgläser geschüttelt werden, was den Sauerstoffkontakt noch verstärkte. Da diese Manipulationen aber bei allen pH-Werten gleich lang und auf exakt dieselbe Weise erfolgten, kommen sie somit als Fehlerquelle nicht in Frage.

3. Wegen des langsamen Wachstums von *P. acnes* ergaben sich in Bezug auf die zeitliche Festsetzung der Messungzeitpunkte praktische Probleme, die darin bestanden, daß pro Tag nicht länger als 14 Stunden kontinuierlich gemessen

werden konnte. Deshalb wurde so verfahren, daß bei fünf Stämmen die ersten Messungen erst ab der 12. Stunde nach Versuchsbeginn stattfanden. Dadurch konnte die exponentielle Wachstumsphase während eines möglichst großen Zeitraums erfaßt werden. Bei zwei weiteren Stämmen wurde durch zeitliche Verschiebung der Messungen auch die langsame Anfangssphase untersucht. Andererseits ergab sich durch das langsame Wachstum folgender Vorteil: Für eine Messung benötigte man eine Zeit von ungefähr 20 Minuten, so daß 10 Minuten vor dem festgesetzten Zeitpunkt begonnen und 10 Minuten danach die Messung abgeschlossen wurde. Während dieses Zeitraums blieben die photometrischen Meßwerte konstant.

4. Da trotz der Anwendung von Pufferlösungen bei den pH-Werten 7,0 und 7,5 eine pH-Verschiebung von ungefähr 0,2 zum Säuren hin stattfand, mußte bei pH 7,0 einmal und bei pH 7,5 zweimal mit 0,05 N Natronlauge mit Sterilfiltern nachtitriert werden. Bei Vorversuchen mit Lösungen des pH-Werts 8,0 ergaben sich pH-Veränderungen von 0,5. Da hier die Messungen zu wenig exakt gewesen wären, wurde in den Hauptversuchen auf Untersuchungen von pH-Werten über 7,5 verzichtet.

4.2. Bedeutung der Ergebnisse im Hinblick auf den optimalen pH-Bereich von Hautwaschmitteln

Aus den vorliegenden Meßwerten geht hervor, daß ein pH-Wert von 5,5 sich deutlich ungünstig auf das Wachstum von *Propionibacterium acnes* auswirkt. Also läßt sich sagen, daß in einem "normalen" Haut-pH von 5,5 eine ungünstige Bedingung für eine Keimvermehrung von *P. acnes* zu sehen ist, und somit der Säuremantel der Haut als

Schutzfaktor gedeutet werden kann. Kommt es nun aber zur Verschiebung des Haut-pH zum Alkalischen hin, wie dies bei Seifenwaschungen der Fall ist, so wäre angesichts der vorliegenden Untersuchungsergebnisse schon bei einer leichten pH-Verschiebung mit einer höheren Keimdichte von *P.acnes* auf der Haut zu rechnen. Interessanterweise konnte von Korting et al. (23) tatsächlich gezeigt werden, daß bei wiederholten Waschungen mit Seife parallel zum leichtgradigen Anstieg des Haut-pH-Werts eine signifikante Vermehrung von *P.acnes* zu verzeichnen ist. Die Verwendung von Syndets, die hier zu keiner wesentlichen Haut-pH-Verschiebung Anlaß gaben, führte demgegenüber erwartungsgemäß auch nicht zu einer Keimvermehrung von *P.acnes*.

In diesem Zusammenhang ist es sinnvoll, sich mit der Bedeutung von *P.acnes* in der Pathogenese der Acne vulgaris und des therapeutischen Nutzens einer Verminderung der Keimdichte auseinanderzusetzen.

Lentze legte in ihrer Übersichtsarbeit (25) die schon länger weithin anerkannte Ansicht dar, daß die freien Fettsäuren als ein wichtiger Faktor im Entzündungs-geschehen bei der Acne vulgaris zu betrachten sind (20,43,48). Diese entstehen durch enzymatische Abspaltung von Triglyzeriden aus dem mit Einsetzten der Pubertät verstärkt gebildeten Sebum. Die hierzu benötigten Esterasen sind hauptsächlich ein Produkt der Propionibakterien (9,10,33,43). Andererseits stellte Hägele (15) 1973 fest, daß auch andere hautirritierende Substanzen, die noch nicht identifiziert worden sind, von *P.acnes* freigesetzt werden.

Der natürliche Standort der Propionibakterien beim Erwachsenen ist der oberflächennahe gelegene Follikelabschnitt (19,24,32), wo sie während der Pubertät

einwandern (25,46). Sie lassen sich massenhaft in Comedonen und Aknepusteln nachweisen (12,19,21), sind aber ebenfalls regelmäßig im Hautoberflächenfett von Hautgesunden anzutreffen (31,34,42,47).

Von mehreren Autoren wurde anhand von Untersuchungen gezeigt, daß eine Korrelation zwischen der Anzahl der Akneeffloreszenzen und der Keimdichte von *P.acnes* nicht nachweisbar ist (11,14,27,34). Holland et al. (17) stellten sogar fest, daß die nicht befallene Haut von Acne-vulgaris-Patienten eine geringere Keimzahl als die Haut von Gesunden aufweist. Somit kann nicht allein die Anzahl der Bakterien ausschlaggebend für den Ausbruch der Erkrankung sein, sondern es muß zusätzlich eine gewisse Prädisposition vorliegen, auf *P.acnes* "allergisch" zu reagieren. Sehr interessant sind in diesem Zusammenhang die Arbeiten von Hägele (15) und Puhvel (41), aus denen hervorgeht, daß Acne-vulgaris-Patienten auf *P.acnes*-Antigene wesentlich stärkere Hautreaktionen zeigen als gesunde Vergleichspersonen. Dieses Phänomen könnte durch die von Puhvel (41) entdeckten erhöhten Antikörpertiter gegen *P.acnes* bei Acne-vulgaris-Patienten erklärt werden. Also kann man von einer verstärkten Reaktionsbereitschaft oder Hypersensibilität auf *Propionibakterium acnes* bei Patienten mit Acne vulgaris sprechen. Daraus läßt sich schließen, daß es zur Behandlung der Acne vulgaris ein durchaus sinnvoller und erfolgversprechender Weg ist, die Keimzahl der *Propionibakterien* durch Erhaltung des sauren pH-Werts der Haut zu limitieren.

Literatur:

1. Arbenz H.: Untersuchungen über die pH-Werte der normalen Hautoberfläche. *Dermatologica* 105, 333-353 (1952)
2. Bergey D.H., Buchanan R.E., Gibbons N.E.: *Bergey's manual of determinative bacteriology*. 8th. Ed. pp. 633-641, Baltimore: Williams & Wilkins (1974)
3. Cornbleet I.: Self-sterilising power of the skin. *Arch. Derm. Syph.* 28, 526-531 (1933)
4. Cunliffe W.J., Cotterill J.A.: *The acne*. W.B. Saunders Co. Ltd., London (1975)
5. Drews G.: *Mikrobiologisches Praktikum*. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York 3. Auflage (1976)
6. Evans C.A.: Persistent individual differences in the bacterial flora of the skin of the forehead: numbers of *Propionibacteria*. *J. Invest. Dermatol.* 64, 42-46 (1975)
7. Evans C.A., Mattern K.L.: The aerobic growth of *Propionibacterium acnes* in primary cultures from skin. *J. Invest. Dermatol.* 72, 103-106 (1979)
8. Evans C.A., Smith W.M., Johnston E.A., Giblett E.R.: Bacterial flora of normal human skin. *J. Invest. Dermatol.* 15, 305-324 (1950)

9. Freinkel R.K., Shen Y.: The origin of free fatty acids in sebum. II. Assay of the lipases of the cutaneous bacteria and effects of pH. J. Invest. Dermatol. 53, 422-427 (1969)
10. Freinkel R.E., Srauss J.S., Yip S.Y., Pochi P.E.: Effect of tetracycline on the composition of sebum in acne vulgaris. New Engl. J. Med. 273, 850 (1965)
11. Gehse M., Höffler U., Gloor M., Pulverer G.: Propionibacteria in patients with acne vulgaris and in healthy persons. Arch. Dermatol. Res. 275, 100-104 (1983)
12. Gilchrist T.C.: A bacteriological and microscopical study of over 300 vesicular and pustular lesions of the skin, with a research upon the etiology of acne vulgaris. Johns Hopkins Hospt. Rept. 9, 409 (1900)
13. Gilchrist T.C.: The etiology of acne vulgaris. J. Cutan. Dis. 21, 107 (1903)
14. Gloor M., Lamerz A., Höffler U., Franke M.: Über die Propionibakterien im Talgdrüseninfundibulum der nichterkrankten Haut bei Acne vulgaris. Untersuchungen an jugendlichen Aknepatienten mit ausgeprägter Komedonenbildung und gesunden Vergleichspersonen. Dermatol. Monatsschr. 166, 798-803 (1980)
15. Hägele E., Schäfer H., Stüttgen G.: Über die Bedeutung der Triglyzerydspaltung durch Corynebacterium acnes für die Acne vulgaris. Arch. Dermatol. Forsch. 328-334 (1973)

16. Holland D., Cunliffe W.J.: Skin surface and open comedone pH in acne patients. Acta Dermatovener (Stockolm) 63, 155-158 (1982)
17. Holland K.T., Cunliffe W.J., Roberts C.D.: Acne vulgaris: an investigation into the number of anaerobic diphtheroids and members of the micrococcaceae in normal and acne skin. Brit. J. Dermatol. 96, 623-626 (1977)
18. Holland K.T., Cunliffe W.J., Roberts C.D.: The role of bacteria in acne vulgaris: a new approach. Clin. Exp. Derm. 3, 253-257 (1978)
19. Imamura S., Pochi P.E., Strauss J.S. et al.: The lokalisation and distribution of Corynebacterium acnes and its antigens in normal skin and in lesions of acne vulgaris. J. Invest. Dermatol. 53, 143-150 (1969)
20. Kellum R. E., Strangfeld K.: Triglyceride hydrolysis by Corynebacterium acnes in vitro. J. Invest. Dermatol. 52, 255 (1969)
21. Kirschbaum J.O., Kligman A.M.: The pathogenic role of Corynebacterium acnes in acne vulgaris. Arch. Dermatol. 88, 832-833 (1963)
22. Kishishita M., Ushijima T., Ozaki Y., Ito Y.: Biotyping of Propionibacterium acnes isolated from normal human skin. Appl. Environ. Microbiol. 38, 585-589 (1979)

23. Korting H.C., Kober M., Müller M., Braun-Falco O.: Influence of repeated washings with soap and syndets on pH and resident flora of the skin of the forehead and forearm. Results of a crossover trial in healthy probationers. Acta Dermatol.- Venerol. (in press)
24. Lentze F.A.: Zur Bakteriologie und Serologie des sog. "Acne Bacillus" sive Bacterium renale cuniculi (Manteufel u. Herzberg) - der A. B. als Luftkeim eine gefährliche Fehlerquelle der bakteriologisch-serologischen Technik. Zbl. Bakt. 1. Abt. Orig. 155, 290-294 (1950)
25. Lentze I.: Corynebacterium acnes; ein entscheidender Faktor in der komplexen Ätiologie der Acne vulgaris? Der Hautarzt 24, 91-95 (1973)
26. Lentze I., Ko H.L., Höffler U.: Differenzierung unterschiedlicher Propionibakterienspezies aus Acne-vulgaris-Effloreszenzen. Der Hausarzt 30, 242-247 (1979)
27. Lyden J.J., McGinley K.J., Mills O.H., Kligman A.M.: Propionibacterium levels in patients with and without acne vulgaris. J. Invest. Dermatol. 65, 382-384 (1975)
28. Marchionini A., Pascher G., Röckl H.: Der pH-Wert der Hautoberfläche und seine Bedeutung im Rahmen der Bakterienabwehr. In: D.M. Pillsbury, C.S. Livingood (Herg.): Proceeding of the XII. Int. Congress of Dermatology, Vol.1, Int. Congress Series Nr.55, Excerpta Medica Foundation, Amsterdam 396-403 (1963)

29. Marchionini A., Schmidt R.: Säuremantel der Haut und Bakterienabwehr. III. Mitteilung: Über die regionäre Verschiedenheit des Bakterienwachstums auf der Hautoberfläche. Klin. Wochenschr. 17, 773-775 (1938)
30. Marchionini A., Schmidt R., Kiefer J.: Säuremantel der Haut und Bakterienabwehr. II. Mitteilung: Die regionäre Verschiedenheit der Bakterienabwehr und Desinfektionskraft der Hautoberfläche. Klin. Wochenschr. 17, 736-739 (1938)
31. Marples M.J.: The normal flora of the human skin. Brit. J. Dermatol. 81 Suppl. 1,2 (1969)
32. Marples M.J.: The ecology of human skin. Springfield: C.C. Thomas (1965)
33. Marples R.R., Kligman A.M., Lantis L.R., Downing D.T.: The role of the aerobic microflora in the genesis of free fatty acids in human surface lipids. J. Invest. Dermatol. 55,173 (1970)
34. Marples R.R., McGinley K.J., Mills O.H.: Microbiology of comedones in acne vulgaris. J. Invest. Dermatol. 60, 80-83 (1973)
35. McGinley K.J., Webster G.F., Leyden J.J.: Regional variations of cutaneous Propionibacteria. Appl. Environ. Microbiol. 35, 62-66 (1978)
36. McIlvaine T.C.: A puffersolution for colorimetric comparison. J. Biol. Chem. 49, 185-186 (1921)

37. Noble W.C.: Observations on the surface flora of the skin and on the skin pH. Brit. J. Derm. 80, 279-282 (1968)
38. Noble W.C., Somerville D.A.: Microbiology of human skin. Saunders, Philadelphia (1974)
39. Pillsbury D.M., Rebell G.: The bacterial flora of the skin. J. Invest. Dermatol. 18, 173-186 (1952)
40. Puhvel S.M.: Characterisation of *Corynebacterium acnes*. J. Gen. Microbiol. 50, 313-320 (1968)
41. Puhvel S.M., Hoffman I.K., Reisner R.M.: Dermal hypersensitivity of patients with acne vulgaris to *Corynebakterium acnes*. J. Invest. Dermatol. 49, 154-158 (1967)
42. Puhvel S.M., Reisner R.M., Amirian D.A.: Quantification of bacteria in isolated pilosebaceous follicles in normal skin. J. Invest. Dermatol. 65, 525-531 (1975)
43. Reisner R.M., Silver S.Z., Puhvel S.M., Sternberg T.H.: Lipolytic activity of *Corynebacterium aenes*. J. Invest. Dermatol. 51, 190-196 (1968)
44. Röckl H., Spier H.W., Pascher G.: Der Einfluß wasserlöslicher Bestandteile der Hornschicht auf Bakterien. Arch. Klin. Exp. Derm. 205, 420-434 (1957)

45. Schade H., Marchionini A.: Der Säuremantel der Haut. Klin. Wochenschr. 7, 12-14 (1928)
46. Somerville D.A.: The effect of age on the normal bacterial flora. Brit. J. Derm. 81, Suppl.1,14 (1969)
47. Somerville D.A., Murphy C.T.: Quantification of *Corynebacterium acnes* on healthy human skin. J. Invest. Dermatol. 60, 231-233 (1973)
48. Strauss J.S., Pochi P.E.: Intracutaneous injection of sebum and comedones. Arch. Dermatol. 92, 443 (1965)
49. Takizawa K.: A study on the characterization of *Corynebacterium acnes*. J. Dermatol. (Tokyo) 4, 193-202 (1977)
50. Tronnier H.: Seifen und Syndets in der Hautpflege und -therapie. Ärztl. Kosmetol. 15, 19-30 (1985)
51. Unna P.J.: Die Histopathologie der Hautkrankheiten. Berlin: Hirschwald (1894)
52. Whiteside J.A., Voss J.G.: Incidence and lipolytic activity of *Propionibacterium acnes* (*Corynebacterium acnes* group I) and *P.granulosum* (*C.acnes* group II). J. Invest. Dermatol. 60, 94-97 (1973)

Danksagung

Herrn Prof. Dr. Dr.O.Braun-Falco danke ich für die Überlassung des Themas und der Möglichkeit der Bearbeitung an der Dermatologischen Klinik und Poliklinik der Ludwig-Maximilian-Universität München.

Ganz besonders herzlich möchte ich Herrn OA Dr. med. habil. H.C. Korting für seine freundliche Unterstützung und Beratung danken.

Mein Dank gilt auch Frau Bergen-Rieder, Frau Weishaar, Fräulein Kaspar und Frau Fleischer für ihre Betreuung während der Laborarbeit.

Lebenslauf

Am 10. April 1958 wurde ich als Tochter des Dr. med. Josef Bau und seiner Ehefrau Charlotte geb. Gerwin in Quierschied/Saar geboren.

Ich wuchs in Offenburg/Baden auf und besucht dort von 1965 bis 1968 die Volksschule und von 1968 bis 1977 das humanistische Grimmelshausen-Gymnasium, wo ich 1977 mein Abitur ablegte.

Anschließend hielt ich mich ein Jahr in Genf (Schweiz) auf, um die französische Sprache zu erlernen.

Im September 1978 begann ich mein Medizinstudium in Mons (Belgien) und wechselte 1980 an die Universität Erlangen über. 1982 setzte ich mein Studium in München an der Ludwig-Maximilians-Universität fort.

Im Mai 1985 begann ich das Praktische Jahr mit dem Wahlfach Anästhesie.

Nach Bestehen des 3. Abschnitts der Ärztlichen Prüfung erhielt ich im Mai 1986 die Approbation als Ärztin.

